

UNIVERSITÉ DE LYON

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE - N° 83

Sur quelques dérivés des ACIDES AMINÉS

THÈSE

POUR LE DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE LYON

(SECTION DE PHARMACIE)

Présentée et soutenue publiquement devant la Faculté de Médecine et de Pharmacie

Le 25 juin 1921

PAR

JOSEPH FRESSYNET

Pharmacien, Licencié ès sciences

Né le 1^{er} Octobre 1898, à Saint-Chamond (Loire)



LYON
IMPRIMERIE EXPRESS

46, RUE DE LA CHARITÉ, 46

1921

**Sur quelques dérivés des
ACIDES AMINÉS**

PERSONNEL DE LA FACULTÉ

MM. J. LEPINE..... Doyen.
ROQUE..... Assesseur.

PROFESSEURS HONORAIRES

MM. AUGAGNEUR, SOULIER, CAZENEUVE, BEAUVISAGE,
LACASSAGNE, TESTUT.

PROFESSEURS

Cliniques médicales	MM. TEISSIER
Cliniques chirurgicales	ROQUE
Clinique obstétricale et Accouchements.....	BARD
Clinique ophtalmologique	TIXIER
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques.....	BERARD
Clinique neurologique et psychiatrique.....	X
Clinique des maladies des enfants.....	ROLLET
Clinique des maladies des femmes.....	NICOLAS
Clinique d'oto-rhino-laryngologie	LEPINE (J.)
Clinique des maladies des voies urinaires.....	WEILL
Clinique chirurgicale des maladies des enfants.....	POLLOSSON (A.)
Physique biologique, Radiologie et Physiothérapie.....	LANNOIS
Chimie biologique	ROCHET
Chimie organique et Toxicologie.....	NOVE-JOSSERAND
Matière médicale et Botanique.....	CLUZET
Parasitologie et Histoire naturelle médicale.....	HUGOUNENQ
Anatomie	MOREL
Anatomie générale et Histologie.....	MOREAU
Physiologie	GUIART
Pathologie Interne	LATARJET
Pathologie et Thérapeutique générales.....	POLICARD
Anatomie pathologique	DOYON
Médecine opératoire	COLLET
Médecine expérimentale et comparée.....	MOURIQUAND
Médecine légale	PAVIOT
Hygiène	VILLARD
Thérapeutique	ARLOING (F.)
Pharmacologie	Etienne MARTIN
Pathologie externe.....	COURMONT (F.)
Propédeutique de gynécologie.....	PIC
Chimie minérale	FLORENCE (A.)
Accouchements	VALLAS
Urologie	CONDAMIN
	BARRAL
	COMMANDEUR
	GAYET

CHARGES DE COURS COMPLEMENTAIRES

Embryologie	HOVELACQUE
Anatomie topographique.....	PATEL
Botanique	BRETIN
Stomatologie	TELLIER

AGREGES

MM.	MM.	MM.	MM.
NOGIER	SAVY	HOVELACQUE	ROUBIER
BRETIN	FROMENT	TRILLAT	FAVRE
LERICHE	THEVENOT (Lucien)	SARVONAT	MURARD
THEVENOT (Léon)	PIERY	FLORENCE (G.)	BONNET
TAVERNIER	COTTE	ROCHAIX	GRAVIER, chargé des
CADE	DUROUX	CORDIER	fonctions.
GARIN			

M. BAYLE, secrétaire.

EXAMINATEURS DE LA THESE

M. HUGOUNENQ, Président; M. MOREL, Assesseur.
MM. BARRAL et FLORENCE G. Agrégés.

La Faculté de Médecine de Lyon déclare que les opinions émises dans les dissertations qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle n'entend leur donner ni approbation ni improbation.

UNIVERSITÉ DE LYON

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE - N° 83

Sur quelques dérivés des ACIDES AMINÉS

THÈSE

POUR LE DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE LYON

(SECTION DE PHARMACIE)

Présentée et soutenue publiquement devant la Faculté de Médecine et de Pharmacie

Le 25 juin 1921

PAR

JOSEPH FRESSYNET

Pharmacien, Licencié ès sciences

Né le 1^{er} Octobre 1898, à Saint-Chamond (Loire)



LYON
IMPRIMERIE EXPRESS

46, RUE DE LA CHARITÉ, 46

A MON PÈRE, A MA MÈRE

A MON FRÈRE, A MA BELLE-SŒUR

A MA SŒUR, A MON BEAU-FRÈRE

A TOUS LES MIENS

A MES AMIS

A MONSIEUR LE PROFESSEUR HUGOUNENQ

Professeur de Chimie Médicale

Doyen honoraire de la Faculté de Médecine et Pharmacie

Officier de la Légion d'honneur

Qui m'a inspiré le sujet de cette étude,
et m'a dirigé et aidé durant le cours de
mes travaux. Qu'il veuille bien agréer,
pour toute sa bienveillance à mon égard,
l'hommage de ma sincère et respectueuse
gratitude.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR MOREL

Professeur de Chimie organique

Chevalier de la Légion d'honneur

A MONSIEUR LE PROFESSEUR BARRAL

Professeur de Chimie minérale

Chevalier de la Légion d'honneur

A MONSIEUR LE PROFESSEUR G. FLORENCE

Professeur agrégé de Chimie

A MES MAÎTRES

INTRODUCTION

Parmi les matériaux indispensables à la vie, tels que les sucres, hydrates de carbone, graisses et albuminoïdes, ces dernières substances sont particulièrement intéressantes.

Elles sont, en effet, la base même de notre organisme, les constituants de nos tissus ; nous les retrouvons partout : dans le sang, sous forme de fibrine et d'hémoglobine, dans les os, les cheveux, les ongles. L'albumine de l'œuf, la caséine du lait en sont encore des exemples, tout comme le gluten, la fibroïne de la soie, etc.

L'étude de ces substances albuminoïdes, malgré les immenses progrès réalisés dans leur domaine, est cependant loin d'être complète. Nous savons toutefois, aujourd'hui, que ces composés, dont le poids moléculaire s'élève à 5.800 et plus, sont en réalité le résultat de la soudure, molécule à molécule, d'un grand nombre de composés beaucoup plus simples, appelés « acides aminés ». On peut comparer ces lourdes molécules à une longue chaîne dont chaque acide aminé constituerait un anneau.

Au cours de leur passage dans le tube digestif, cette

chaîne se tronçonne sous l'influence des sucs gastrique, pancréatique et intestinal; la molécule albuminoïde est scindée en éléments très complexes encore et voisins de la substance protéique primitive, mais dont ils diffèrent très nettement par leurs propriétés physiques et chimiques; ces éléments ont reçu de certains auteurs les noms d' « albumoses et de peptones ».

En même temps qu'eux, et par décomposition plus avancée de la molécule albuminoïde, d'autres fragments moins volumineux encore se forment : ce sont les « polypeptides » résultant de la combinaison de plusieurs acides aminés entre eux.

A leur tour, ces polypeptides se dédoublent, d'abord en peptides de plus en plus simples (tétra, tri, puis dipeptides) et finalement en acides aminés libres, termes ultimes de cette décomposition.

Ainsi se passe très schématiquement dans notre organisme la destruction des substances protéiques; nous assistons, suivant l'expression de M. le professeur Hugounenq, à la désagrégation progressive et totale de la molécule primitive, qui débute par un grossier concassage, pour aboutir à la libération des acides aminés. C'est à ce stade que l'organisme vient alors puiser les acides qui lui sont nécessaires, les soude entre eux à sa manière et réalise ainsi la synthèse de ses propres albuminoïdes.

Ce même broyage moléculaire qui a lieu dans notre tube digestif peut également se reproduire au laboratoire artificiellement; si l'on maintient, par exemple, à la température de 37°, de la caséine en contact avec du suc gastrique, on obtient au bout de quelques heures

un mélange complexe de peptones, polypeptides et acides aminés. L'action du suc pancréatique ou du suc intestinal est plus profonde encore et la transformation en acides aminés presque totale.

Les acides minéraux forts, les alcalis concentrés à l'ébullition produisent les mêmes effets que les sucs digestifs; les albuminoïdes sont hydrolysés également et leurs constituants mis en liberté.

Ces hydrolyses effectuées « in vitro » ont permis jusqu'à ce jour d'identifier toute une série d'acides aminés fondamentaux, à savoir : glycocolle, alanine, valine, leucine, sérine, acides glutamique et aspartique, tyrosine, phénylalanine, tryptophane, proline, oxyproline, arginine, histidine, lysine, cystine.

Ces composés tirent leur appellation de la coexistence dans la même molécule d'un groupement acide COOH et d'un groupement aminé NH^2 .

Certains ont même deux fonctions acides et une seule fonction amine; d'autres présentent la disposition inverse, d'où la classification en :

mono-amino-mono-acides,

mono-amino-diacides.

diamino-mono-acides,

la prédominance de l'une ou de l'autre de ces fonctions leur conférant une réaction acide ou alcaline. Les uns renferment également des groupements aromatiques ou hétérocycliques (tryptophane, tyrosine, phénylalanine, histidine), les autres des groupements variables (l'asparagine, ainsi, a une fonction amide CONH^2) ; la cystine contient du soufre, etc...

A l'état pur, ce sont généralement des substances blanches, bien cristallisées, solubles dans l'eau, presque insolubles dans l'alcool, surtout l'alcool absolu ; leur saveur est assez prononcée, parfois sucrée ou amère.

Ils se combinent aux acides minéraux, nitrique, sulfurique et chlorhydrique et donnent naissance à des dérivés cristallisés et très solubles ; il en est de même avec les acides organiques. Vis-à-vis des bases et des oxydes métalliques, ils jouent le rôle d'acides, les dissolvent et donnent des sels.

Leur point de fusion est assez élevé ; au-dessus, ils brûlent et se décomposent en dégageant de l'anhydride carbonique.

A l'exception du glycocolle, tous ces acides agissent sur la lumière polarisée ; il existe pour chacun d'eux trois isomères, droit, gauche et racémique ; ces derniers s'obtiennent synthétiquement. Quant aux dérivés droits et gauches, on les prépare, soit par dédoublement des racémiques, soit plus fréquemment par hydrolyse des protéines ; on procède alors ainsi :

La matière albuminoïde finement divisée est placée dans un grand ballon de verre surmonté d'un réfrigérant à reflux et additionnée d'un acide minéral fort (sulfurique ou chlorhydrique) ou d'un alcali concentré (soude, potasse). On maintient le mélange à l'ébullition pendant une durée variant de huit à quarante-huit heures.

L'hydrolyse s'effectue progressivement, et quand elle est totale, on refroidit et on filtre. Le filtrat est ensuite neutralisé par une base (chaux, baryte), filtré pour éliminer les sulfates formés, et la liqueur concentrée fina-

lement; les acides aminés ne tardent pas à cristalliser, on les sépare et on les purifie.

On obtient de meilleurs résultats en employant comme agent hydrolysant l'acide fluorhydrique, au lieu de ceux indiqués plus haut, ainsi que l'ont indiqué MM. les professeurs Hugounenq et Morel.

La purification de ces acides s'opère, soit par traitement au noir animal, suivi de recristallisations, soit en réalisant avec un oxyde métallique, tel que l'oxyde de cuivre, une combinaison d'où le cuivre est éliminé par un courant d'hydrogène sulfuré et celui-ci par ébullition; le liquide filtré et concentré abandonne l'acide aminé parfaitement pur.

Pour certains amino-acides, tels que le tryptophane, l'acide glutamique, dont les chlorhydrates sont insolubles dans l'acide chlorhydrique concentré, le procédé de purification est basé sur cette insolubilité même : la liqueur d'hydrolyse est saturée par un courant d'acide chlorhydrique gazeux et refroidie dans la glace; le chlorhydrate formé se dépose, on l'essore, et il ne reste plus qu'à en libérer l'amino-acide.

Les méthodes usuelles utilisées pour cette libération ne conduisent pas à des résultats satisfaisants : la saturation par la chaux, en effet, nécessite des opérations laborieuses pour ne fournir que des rendements inférieurs.

MM. les professeurs L. Hugounenq et G. Florence ont signalé ces difficultés dans une note publiée par eux en date du 20 août 1920, parue dans le « Bulletin de la Société chimique de France » (Sur l'acide d-glutamique).

Pour effectuer cette séparation, ils se sont adressés non plus à une base minérale comme l'avaient fait leurs prédécesseurs, mais à une base organique, l'aniline. beaucoup plus facile à manier et dont l'élimination est à la fois plus rapide et plus parfaite. Un procédé simple et élégant était ainsi trouvé et les essais pratiqués sur l'acide d-glutamique furent pleinement couronnés de succès.

Il restait alors à vérifier, par toute une succession d'essais analogues et de dosages, si ce mode de régénération était susceptible d'être appliqué à la série entière des chlorhydrates d'amino-acides, ou si cette action de l'aniline n'était pas plutôt une particularité pour quelques-uns d'entre eux seulement.

Telle est l'étude à laquelle M. le professeur Hugou-nenq a bien voulu nous attacher, et qui fait l'objet de ce travail.

Malheureusement, cette étude ne sera pas aussi complète que nous l'aurions désirée pour de multiples raisons. Tout d'abord, la quantité considérable d'albuminoïde nécessaire à l'obtention d'un rendement insignifiant en amino-acides, et les manipulations coûteuses que ces préparations exigent, rendent ces acides aminés excessivement rares et d'un prix fort élevé; d'autre part, nous n'avions pas, dans la collection du laboratoire de Chimie médicale, la série complète de ces acides fondamentaux, et pour certains d'entre eux encore, la faible quantité dont nous disposions, a constitué pour nous un obstacle infranchissable, et ne nous a pas permis d'assurer à ce travail toute la perfection qu'il méritait, ce dont nous nous excusons bien franchement.

Dans la première partie de cette thèse, nous exposons le principe du procédé de régénération, ses avantages, ses inconvénients, et quelques observations prises au cours de ces manipulations.

La deuxième partie sera l'étude proprement dite de l'action de l'aniline sur les divers chlorhydrates de glycocolle, alanine, valine, leucine, tyrosine, tryptophane, acides glutamique et aspartique, lysine, arginine, histidine, cystine, auxquels nous avons adjoint le chlorhydrate d'asparagine.

La dernière partie sera réservée à l'étude des combinaisons obtenues avec l'oxyde de chrome et celui de cobalt, et les acides aminés suivants : acides glutamique, aspartique et asparagine, ces sels ayant pu être préparés en quantité suffisante pour nous permettre d'en effectuer l'analyse et de déterminer leur composition chimique.

PREMIÈRE PARTIE

Exposé du procédé

Les acides aminés, avons-nous déjà dit, sous l'action de l'acide chlorhydrique concentré, fournissent des combinaisons stables, bien cristallisées et solubles. Ces dérivés s'obtiennent très facilement par simple dissolution de l'acide aminé dans l'acide chlorhydrique pur, puis par concentration jusqu'à cristallisation; il est parfois nécessaire de recourir à l'action de l'acide chlorhydrique gazeux.

Les monoamino-monoacides, les monoamino-diacides sont ainsi transformés en monochlorhydrates; les diamino-monoacides, tels que la lysine et l'histidine, donnent des bi et des monochlorhydrates, la cystine ne forme qu'un bichlorhydrate seulement; et l'arginine qu'un monochlorhydrate.

Les procédés utilisés pour la régénération de l'acide, à partir de son dérivé chlorhydrique, sont nom-

breux et consistent à neutraliser par un alcali ou un alcalino-terreux le chlorhydrate en solution concentrée. A neutralisation exacte, l'acide aminé est précipité en totalité, et l'acide chlorhydrique s'est fixé sur la base employée.

On peut également, comme l'ont indiqué certains auteurs, ajouter un excès de la base (chaux par exemple) et éliminer cette chaux de sa combinaison par l'acide oxalique, celui-ci par de l'oxyde de plomb d'où le plomb est précipité par l'hydrogène sulfuré que l'on chasse par ébullition. La méthode devient alors assez compliquée et les résultats fournis ne sont guère encourageants.

Il se produit ici une combinaison double contenant du chlore et de la chaux; le glycocolle, les acides aspartique et glutamique, entre autres, donnent cette réaction : le glutamate-chlorocalcique a été ainsi décrit par MM. L. Hugounenq et G. Florence dans leur note sur l'acide d-glutamique cité plus haut.

Il n'en est plus de même si, au lieu de chaux ou d'ammoniaque, on utilise l'aniline; celle-ci, comme les bases minérales, se combine à l'acide chlorhydrique du chlorhydrate et libère de la sorte l'acide aminé, mais elle présente de plus sur elles l'avantage de ne pas se combiner à cet acide aminé si l'on en a ajouté un excès. Il se produit du chlorhydrate d'aniline que l'on élimine très facilement par des lavages à l'alcool absolu où il est très soluble, tandis que l'acide aminé ne s'y dissout pas; il est donc excessivement simple de le séparer et de le purifier.

Voici donc comment nous avons opéré :

A un poids donné de chlorhydrate d'acide-amino.

placé dans un ballon de verre, on ajoute une quantité d'aniline supérieure à la quantité théorique calculée pour effectuer la mise en liberté de tout l'acide aminé, et on ajoute dix fois son volume d'alcool au mélange; l'alcool utilisé est l'alcool à 95° ou mieux l'alcool absolu. On adapte un réfrigérant à reflux au ballon et le tout est placé sur un bain-marie bouillant, puis chauffé pendant quatre heures.

Par évaporation de l'alcool, on obtient un résidu cristallin jaunâtre formé de chlorhydrate d'aniline, d'aniline en excès non combinée et d'acide aminé : on reprend par de l'alcool absolu, on filtre et lave le résidu à l'alcool pour éliminer toutes les impuretés. Ces lavages seront répétés jusqu'à ce que l'alcool qui filtre passe absolument incolore et ne contienne plus de chlore décelable par le nitrate d'argent. Le résidu est alors mis à sécher : c'est l'acide aminé pur.

Certains chlorhydrates, tels que celui de l'acide aspartique, sont déjà décomposés à froid par l'aniline avec élévation de température.

Cette même réaction, qui se produit ainsi à l'ébullition, se renouvelle également à froid, et ceci pour tous les chlorhydrates essayés. On procède plus simplement par précipitation :

Dans un grand vase à précipité, on verse une solution aqueuse concentrée de chlorhydrate (ou mieux une solution dans l'alcool faible faite à chaud). L'addition à cette solution d'un mélange d'alcool et d'aniline (10 alcool, 1 aniline), en quantité suffisante pour saturer tout l'acide chlorhydrique du chlorhydrate, produit un abondant précipité d'acide aminé. On laisse en repos

pendant douze heures pour que la précipitation soit totale. on filtre et lave à l'alcool absolu le résidu qui est parfaitement blanc.

Mais tous ces chlorhydrates ne sont pas solubles dans l'eau et l'alcool, et ceci est un petit inconvénient du procédé. En effet, il en est certains que l'eau décompose instantanément, mais qui sont solubles dans l'alcool (tyrosine), d'autres qui sont dissociés à la fois par l'eau et l'alcool (cystine et acide aspartique). Il suffit pour y remédier, d'ajouter à l'eau ou à l'alcool qui doivent les dissoudre, quelques gouttes d'acide chlorhydrique pour empêcher leur dissociation; et si, à la solution ainsi obtenue, on ajoute alors l'aniline et l'alcool, il y a formation du précipité d'acide aminé.

Les lavages à l'alcool absolu doivent être parfaits pour enlever toute trace d'impuretés, sinon, il se produit à la dessiccation des colorations rosées ou brunâtres dues à des traces d'aniline en excès, surtout quand celle-ci n'est pas pure.

Il est absolument nécessaire d'opérer au sein d'un alcool de titre très élevé (alcool à 95°, ou mieux alcool absolu), pour avoir de bons rendements, car les acides aminés y sont excessivement peu solubles et la précipitation est totale. L'abaissement du titre de l'alcool occasionne des pertes sensibles et dans l'alcool à 30° par exemple, la leucine et la valine ne précipitent plus du tout.

La formation de ce précipité est favorisée par l'élévation de la température du mélange qui rend la réaction plus énergique, de même l'agitation l'accélère.

Les précipités obtenus au sein de l'alcool absolu et

examinés au microscope sont généralement amorphes et ne présentent pas de formes cristallines bien nettes. Au sein de l'alcool à 85°, par contre, on assiste à la formation de magnifiques cristaux microscopiques à contours très réguliers. Nous avons intercalé dans le texte quelques figures représentant des cristaux obtenus de la sorte.

Ce procédé, on le voit, présente sur les autres, l'avantage d'une extrême simplicité et supprime beaucoup de manipulations laborieuses, surtout si l'on opère par précipitation.

Le seul reproche qu'il soit possible de lui adresser consiste en la mise en œuvre de produits (alcool, aniline), dont le prix est incontestablement plus élevé que ceux de la chaux ou de l'ammoniaque. Mais la récupération de ces corps se pratiquant sans pertes bien sensibles, en fait un procédé de choix, tout aussi économique et surtout plus rapide et plus simple.

Pour éviter toute erreur, nous avons tenu à nous assurer par des dosages d'azote et de chlore, de la composition exacte des chlorhydrates employés et de celle de l'acide obtenu après régénération par l'aniline : l'azote a été dosé par la méthode de Kjeldahl et distillation de l'ammoniaque dans de l'acide sulfurique titré ; le chlore a été dosé par pesée après calcination à l'état de chlorure d'argent fondu.

DEUXIÈME PARTIE

Action de l'aniline en solution alcoolique sur les chlorhydrates d'acides aminés

§ 1. = *Monoamino* = *Monoacides*

Ces composés, qui ne renferment dans leur molécule, à côté d'un radical gras ou aromatique, qu'une seule fonction amine et une seule fonction acide, constituent toute une série de corps dont le nombre d'atomes de carbone et le poids moléculaire augmentent progressivement.

Le premier terme, le plus simple, est le glycocolle. puis viennent la d-alanine et ses dérivés : phénylalanine, sérine (oxyalanine), tyrosine (oxyphénylalanine) et tryptophane (indolalanine); enfin, la d-valine et la l-leucine, auxquelles nous avons adjoint l'asparagine dans cette étude.

A. — GLYCOCOLLE

(N H²). C H² — CO OH

Le glycocolle, ou acide amino-acétique, appelé aussi sucre de gélatine, se produit au cours de l'hydrolyse des protéines par les acides ou les alcalis. Sa découverte remonte à Braconnot, en 1820.

Parmi les substances qui le renferment en abondance, on peut citer la sérumglobuline (3,52 %), la spongine (13,9 %), les diverses soies (de 14 à 35 %), soie de Canton (37,5 %), l'élastine (25,7 %).

L'urine des herbivores en contient aussi à l'état de benzoyl-glycocolle ou acide hippurique.

Sa préparation se fait, soit par hydrolyse de la colle forte au moyen d'acide sulfurique (Braconnot), soit par décomposition de l'acide hippurique par l'acide chlorhydrique (Dessaigues), soit enfin synthétiquement par action de l'ammoniaque sur l'acide monochloracétique.

On le purifie par transformation en dérivé cuivrique (glycocolate de cuivre) assez soluble dans l'eau, d'où l'on élimine le cuivre par un courant d'hydrogène sulfuré et celui-ci par ébullition. Une évaporation aboutit à la cristallisation d'un glycocolle pur.

Préparation du chlorhydrate de glycocolle. — Ce dérivé a été obtenu par simple dissolution dans l'acide chlorhydrique du glycocolle; la solution obtenue est concentrée au bain-marie jusqu'à formation d'une masse cristalline que l'on continue à chauffer doucement pour éliminer la majeure partie de l'acide chlorhydrique non combiné. Le résidu est repris, broyé fine-

ment au mortier et lavé à plusieurs reprises à l'alcool absolu (ce dernier a toutefois l'inconvénient de le dissoudre en assez notable quantité, mais il est facile de le récupérer par évaporation de l'alcool). Les dernières traces d'acide chlorhydrique libre sont, de la sorte, éliminées.

Par dissolution dans l'eau et cristallisation, le composé que nous avons obtenu, se présentait sous forme de plaquettes cristallines formées d'un enchevêtrement de larges prismes incolores que nous avons séché dans le vide.

A l'analyse, ce sel contenait pour cent :

Azote	12,34		12,55
Chlore	31,51		31,92
	trouvé		calculé

Action de l'aniline. — Ce chlorhydrate bien desséché et broyé finement est alors introduit dans un ballon en verre d'éna, surmonté d'un réfrigérant à reflux, et dans lequel nous avons au préalable versé de l'alcool absolu contenant en dissolution un léger excès d'aniline pour que la décomposition du chlorhydrate soit totale.

Le tout est ensuite chauffé pendant quatre heures au bain-marie : cette opération terminée, nous avons distillé la plus grande partie de l'alcool utilisé et versé le résidu encore chaud dans une capsule de porcelaine où il s'est rapidement pris en masse.

Un premier traitement par l'alcool absolu, suivi d'un essorage à la trompe à vide, et quelques lavages réitérés à l'alcool absolu jusqu'à disparition totale du chlore dans le filtrat, ont laissé sur le filtre un résidu absolument

blanc, exempt de chlore, très soluble dans l'eau, insoluble dans l'alcool et les divers dissolvants organiques usuels.

Nous avons obtenu le même composé, et à froid, en opérant de la manière suivante :

Le chlorhydrate de glycolle est dissout à chaud dans l'alcool à 80° et introduit dans un vase à précipité. A cette solution encore chaude, on ajoute peu à peu le mélange d'aniline et d'alcool en agitant. Quand la saturation de l'acide chlorhydrique est achevée, on voit alors très rapidement se former au sein du liquide un léger trouble d'abord, qui s'accroît pour donner lieu à une abondante précipitation. A l'œil nu, on peut même discerner dans le liquide de petites aiguilles cristallines.

Ce précipité placé sous l'objectif du microscope, apparaît alors parfaitement bien cristallisé. Les cristaux formés sont isolés, groupés parfois en rosettes, prismatiques, allongés, ayant des arêtes très nettes et absolument incolores.



On laisse reposer le mélange pendant douze heures environ pour obtenir une précipitation bien complète.

On décante l'alcool qui surnage, on essore le précipité, on le lave à l'alcool absolu jusqu'à élimination totale du chlore. Le résidu, qui est d'une blancheur éclatante, est constitué par du glyocolle pur. On le redissout dans une très petite quantité d'eau bouillante, que l'on abandonne à l'évaporation spontanée, pour l'obtenir en plus gros cristaux. Le glyocolle cristallise, on le recueille et on le sèche.

Quant à l'alcool de lavage, une distillation permet de le récupérer presque en totalité. Le résidu de la distillation, qui contient du chlorhydrate d'aniline et de l'aniline en excès, peut être repris par l'eau, traité par une solution de potasse caustique et agité avec de l'éther qui s'empare de l'aniline mise en liberté, et qui l'abandonne par évaporation.

Les cristaux obtenus comme nous venons de l'indiquer possèdent les propriétés du glyocolle; leur saveur est franchement sucrée; ils fondent à 234°; traités par quelques gouttes de perchlorure de fer, ils donnent la coloration rouge sang, comme les acétates.

Avec ces cristaux, nous avons obtenu le dérivé cuivrique bien connu: il suffit de saturer à chaud par un excès d'hydrate de cuivre bleu fraîchement précipité une solution de ce glyocolle; il se forme ainsi une belle liqueur bleue qui, après filtration et refroidissement, donne naissance à une abondante cristallisation soyeuse de glycollate de cuivre, rappelant grossièrement l'aspect de celle de la tyrosine, et qui, examinée au microscope, se présente sous l'apparence d'un épais feutrage d'aiguilles bleues très allongées.

L'analyse de ce dérivé montre qu'il s'agit bien du glycocollate de cuivre; on trouve, en effet:

Azote %.....	12.67	12.22
Cuivre %.....	27.08	27.51

trouvé	calculé pour le sel + 1 H ² O
--------	---

Enfin un dosage d'azote effectué sur le résidu obtenu montre bien que nous sommes en présence d'un glycolle très pur. Les résultats sont les suivants:

Azote %.....	18,24	18.66 (théorie)
--------------	-------------	-----------------

L'aniline agit donc sur le chlorhydrate de glycolle d'une façon très nette, aussi bien que sur l'acide de glutamique, comme l'ont indiqué MM. Hugounenq et Florence, et la régénération se fait presque sans perte, si ce n'est celle causée par la solubilité insignifiante du glycolle dans l'alcool.

B. d-ALANINE



Le deuxième terme de cette série d'acides aminés est l'alanine, homologue du glycolle dont nous venons de parler, et qui n'en diffère que par un CH² en plus.

Cette alanine naturelle se retrouve dans les produits de dédoublement d'un grand nombre de substances albuminoïdes au cours de l'hydrolyse par les alcalis concentrés ou les acides minéraux forts.

Certaines matières protéiques ont une teneur en alanine assez élevée: la globine du sang de cheval en renferme, par exemple, 4,19 %, la kératine, la gluténine de

4 à 5 %; les semences germées de riz, la gélatine, la phaséoline des haricots, le zéine du maïs, de 0,8 à 9,52 %; mais ce sont surtout les soies, et spécialement la soie de Canton, qui en fournissent le plus: leur teneur, en effet, s'élève de 18 à 24 %.

L'hydrolyse de cette soie par l'eau de baryte (Schutzmberger et Bourgeois) ou par l'acide sulfurique concentré donne une alanine qui se présente sous forme d'un produit blanc cristallisant en prismes obliques à base rhombe, de saveur douce et sucrée, soluble dans quatre à cinq fois son poids d'eau froide; par contre, comme pour tous les autres acides aminés en général, sa solubilité dans l'alcool est très faible (0,37 %); les acides la dissolvent très facilement.

Préparation du Chlorhydrate. — Il s'obtient très simplement par addition à une certaine quantité d'alanine d'un excès d'acide chlorhydrique concentré de façon à obtenir le véritable chlorhydrate ($C^3 H^7 NO^2, HCl$). L'action de l'acide chlorhydrique gazeux sur l'alanine sèche ou l'addition d'une trop faible quantité d'acide à l'alanine conduirait à un hémichlorhydrate ($C^3 H^7 NO^2$)², HCl , soluble dans l'eau, mais peu dans l'alcool.

En opérant par dissolution dans un excès d'acide, nous avons obtenu une solution incolore qui a été concentrée lentement dans le vide. Au bout de trois jours, il ne restait plus qu'un sirop très visqueux, difficilement cristallisable, soluble dans l'eau et l'alcool.

Quand la cristallisation a été achevée, nous avons essoré les cristaux formés qui se présentaient sous forme de fines aiguilles et terminé la dessiccation dans la cloche

à vide; ces cristaux sont, en effet, très déliquescents, très solubles dans l'eau et l'alcool. Ils répondaient à la formule du vrai chlorhydrate et contenaient:

Chlore %,..... 27,98 28,20 (théorie)

Action de l'aniline. — Ces cristaux de chlorhydrate ont été dissous à chaud dans l'alcool à 95° et additionnés d'un mélange, en excès, d'aniline dans l'alcool absolu. Au bout de quelques minutes de contact et par agitation, il s'est formé un précipité floconneux très léger qui se rassemble lentement au fond du récipient.

Il se présente, au microscope, comme un feutrage épais de fines aiguilles cristallines, incolores, enchevêtrées; après douze heures de repos, le précipité a été séparé par filtration à la trompe à vide et lavé à l'alcool absolu froid, jusqu'à disparition du chlore dans l'alcool de lavage, puis séché à l'air libre.

Le résidu était un produit très blanc, excessivement léger, de saveur sucrée assez prononcée et très soluble dans l'eau.

Le dosage de l'azote montre que nous sommes en présence d'une alanine très pure; en effet:

Azote %,..... 15,67 15,73 (théorie)

Le chlorhydrate d'alanine est donc ainsi décomposé par l'aniline, comme le glycocolle.

C. — d-VALINE

acide α-isoaminovalérique



La valine se retrouve parmi les produits de décompo-

sition d'un grand nombre de protéiques : la gélatine, la caséine, la gliadine hydrolysées en fournissent. On la rencontre également dans l'élastine (1 %), dans la corne, et surtout dans les protamines; la salmine, par exemple, en fournit 4,3 %.

C'est un produit blanc cristallisé, soluble dans l'eau, mais moins que la leucine (1 partie dans 11 parties d'eau à 16°), avec laquelle elle est presque toujours associée.

On l'obtient aussi à partir de la valine inactive dédoublée en ses deux isomères actifs.

Préparation du chlorhydrate.— Nous avons fait dissoudre à chaud la d-valine dans un excès d'acide chlorhydrique concentré et évaporé la solution au bain-marie jusqu'à obtention d'une masse cristalline à peu près sèche. Cette masse a été reprise par l'eau bouillante, concentrée, et abandonnée dans le vide jusqu'à cristallisation.

Nous avons ainsi obtenu de grandes aiguilles cristallines incolores assemblées autour d'un centre commun qui ont été desséchées à l'air libre.

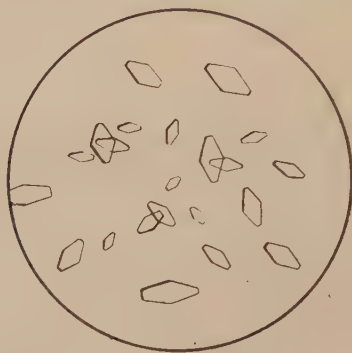
Ce composé contenait à l'analyse :

Chlore %.....	22,69.....	23,12 (théorie)
---------------	------------	-----------------

il est très soluble dans l'eau et à chaud dans l'alcool.

Action de l'aniline. — Une solution alcoolique d'aniline ajoutée à une solution dans l'alcool de chlorhydrate de valine produit la formation d'un abondant précipité d'autant plus vite que le titre de l'alcool est plus élevé. Au sein de l'alcool à 80°, et en opérant en solution convenablement concentrée, nous avons obtenu un précipité

qui, au microscope, affecte la forme de paillettes hexagonales, losangiques et tronquées aux deux extrémités.



Dans l'alcool à 30°, la précipitation n'a plus lieu du tout.

Le précipité essoré, lavé à plusieurs reprises à l'alcool absolu, est un résidu nacré, absolument blanc; il a été desséché à l'étuve réglée à 110° pendant une heure, puis pesé et analysé.

Les résultats obtenus sont les suivants :

Azote %..... 11,68 11,96 (théorie)

et démontrent la pureté de la valine régénérée par ce procédé.

E. — 1-LEUCINE



acide α -amino-caproïque

La leucine découverte par Proust se produit comme les acides aminés précédents, au cours de la décomposition

d'un grand nombre de substances albuminoïdes. On l'a retrouvée parmi les produits de la putréfaction du gluten, du fromage; la gélatine, les fibres musculaires, la laine en fournissent aussi. Le rein, le foie, le pancréas et même l'urine en renferment également où elle est souvent associée à la tyrosine.

Les rendements les meilleurs sont obtenus avec la caséine (10,5 à 32 %), la fibroïne de la soie (20 %), la kératine, les ongles, la corne râpée (18,3 %), la zéine du maïs (18,6).

Généralement, on s'adresse à la corne râpée qu'on hydrolyse par l'acide sulfurique (Hinterberger); celui-ci est saturé par de la chaux dont l'excès est éliminé par de l'acide sulfurique, ou encore par de l'acide oxalique (Schwanert); la tyrosine et la leucine cristallisent. On la sépare facilement de la tyrosine en la dissolvant dans l'eau froide où la tyrosine est insoluble.

Braconnot utilise la chair de bœuf et l'acide sulfurique; il sature le liquide par du carbonate de chaux, filtre, concentre et extrait la leucine par dissolution dans l'alcool à 80 centièmes, où elle est soluble.

Les matières azotées, albumine, gélatine, traitées par la potasse en fusion; la digestion pancréatique de la fibrine sont aussi des procédés utilisés pour cette préparation.

La leucine ainsi obtenue se présente sous forme d'une poudre blanche composée de fines écailles nacrées, solubles dans l'eau (1 pour 40 environ), presque insolubles dans l'alcool (1/658), très solubles par contre dans les acides et les alcalis.

Préparation du chlorhydrate. — On peut l'obtenir très facilement en dissolvant la leucine à une douce température dans de l'acide chlorhydrique pur. En concentrant au bain-marie pour chasser l'excès d'acide, on obtient alors un résidu blanchâtre qu'on redissout dans l'eau bouillante; par évaporation, on aboutit à une masse cristalline, excessivement soluble dans l'eau, soluble également dans l'alcool, surtout à chaud.

Ce chlorhydrate a donné pour résultat à l'analyse :

Chlore %..... 20,70..... 21,19 (théorie)

On peut aussi obtenir ce chlorhydrate par action d'un courant d'acide chlorhydrique gazeux sur la leucine humectée d'eau.

Action de l'aniline. — Ce chlorhydrate ainsi préparé est dissout à chaud dans de l'alcool à 80°. La solution additionnée d'un mélange d'alcool et d'aniline en quantité suffisante donne bientôt naissance à un trouble léger qui s'accroît et aboutit à la formation d'un abondant précipité.

Après douze heures de contact, la précipitation est achevée; le liquide surnageant est décanté, le précipité essoré à la trompe à vide et lavé à l'alcool absolu jusqu'à disparition des dernières traces de chlore.

Il reste sur le filtre une couche absolument blanche d'un produit qui, examiné au microscope, se présente sous forme de minuscules cristaux hexagonaux, à contours très nets et incolores. Cette cristallisation est surtout très belle quand on opère au sein d'un mélange alcoolique d'un titre voisin de 80°, comme nous l'avons déjà signalé pour la valine; dans l'alcool à 30°, il ne se

produit presque pas ou même pas du tout de précipité. L'alcool à 95°, et surtout l'alcool absolu donnent une précipitation immédiate, mais le composé obtenu n'a pas de formes cristallines bien déterminées. Ces alcools de titre élevé ont toutefois l'avantage de ne pas dissoudre autant de leucine que l'alcool à 80°.



La leucine ainsi récupérée par l'aniline est très pure ; l'azote dosé, en effet, le prouve :

Azote %... .. 10,56..... 10,69 (théorie)

F. — I-TYROSINE



para-oxy-phénylalanine

Cet acide aminé découvert en 1846 par Liebig se rencontre presque toujours associé à la leucine dans la décomposition d'un grand nombre de matières albuminoïdes telles que la caséine, d'où elle fut extraite pour la première fois par fusion de celle-ci avec la potasse. On l'a retrouvée encore dans la fibrine, l'albumine, la corne

râpée, la soie hydrolysée par l'acide sulfurique. Le foie, le pancréas en renferment un peu; l'extrait sec de l'urine en fournit également de petites quantités par sublimation.

Les procédés de préparation sont nombreux et variés. Stædeler indique par exemple d'attaquer la corne râpée par l'acide sulfurique; Fisher utilise la soie dégommée hydrolysée par l'acide sulfurique; la liqueur obtenue est filtrée, saturée par de la baryte, filtrée de nouveau. Les précipités séparés par filtration et qui contiennent de la tyrosine sont épuisés à l'eau bouillante, et toutes ces liqueurs réunies et concentrées abandonnent la tyrosine avec un rendement de 8 à 10 gr. pour 100 de soie utilisée.

Préparation du chlorhydrate. — Comme pour les acides aminés précédemment étudiés, nous avons traité de la tyrosine ainsi obtenue par un excès d'acide chlorhydrique concentré et évaporé au bain-marie. Nous avons pu recueillir de la sorte de petits cristaux prismatiques, allongés de chlorhydrate de tyrosine, qui ont été desséchés dans le vide.

Ils sont solubles dans l'alcool, solubles mais non décomposés tout de suite en leurs constituants par l'eau. Pour empêcher cette décomposition, il suffit d'ajouter à l'eau qui doit servir à dissoudre ce chlorhydrate quelques gouttes d'acide chlorhydrique pur.

A l'analyse, ce chlorhydrate donne :

Chlore %..... 15,84..... 16,32 (théorie)

Action de l'aniline. — Ce chlorhydrate est dissous dans l'alcool et additionné d'une solution alcoolique d'aniline en excès. Il se produit dans le liquide un volumineux pré-

cipité laiteux, assez difficile à essorer, et qui a été complètement débarrassé d'aniline et de chlorhydrate d'aniline par des lavages réitérés à l'alcool absolu, où la tyrosine est remarquablement insoluble, d'ailleurs (1 pour 13.500).

Au microscope, ce précipité se présente sous l'aspect caractéristique d'étoiles formées de fines aiguilles incolores, que l'on rencontre aussi très souvent isolées ou assemblées en petits balais.

Ce précipité recueilli, lavé et séché, a fourni comme résultat :

Azote % 7,47.....7,73 (théorie)

Nous avons pu, par ce procédé, obtenir du premier jet une tyrosine pure dans une liqueur d'hydrolyse de la soie. La technique suivie pour cette préparation était celle indiquée par Cramer pour l'obtention de la sérine :

On fait bouillir la soie avec de l'eau et on évapore la solution filtrée jusqu'à ce qu'elle contienne environ 7 à 8 % de son poids de gélatine de soie en dissolution. On maintient ce liquide à l'ébullition pendant vingt-quatre heures, après l'avoir additionné d'un quart de son volume d'acide sulfurique. On laisse refroidir et on sature avec un léger excès de chaux; le sulfate de chaux formé est éliminé par filtration, épuisé à l'eau bouillante pour en extraire la tyrosine et le filtrat concentré au bain-marie en l'additionnant de temps en temps de quelques gouttes d'acide sulfurique pour neutraliser exactement. Il se développe bientôt une abondante cristallisation de tyrosine, de sulfate de chaux, et d'un mélange de sérine, leucine, etc... Leucine et sérine sont éliminés par

dissolution dans l'eau froide ; le résidu est traité par l'acide chlorhydrique pur, la tyrosine se transforme en chlorhydrate ; on concentre jusqu'à cristallisation, on dissout le résidu dans l'alcool, on filtre et ajoute au filtrat la solution alcoolique d'aniline qui produit immédiatement la précipitation de la tyrosine.

Le sulfate de chaux, insoluble dans l'acide chlorhydrique et l'alcool est resté sur le filtre.

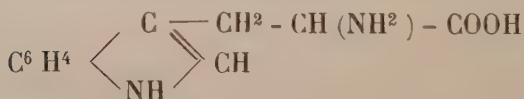
La tyrosine ainsi préparée contenait à l'analyse :

Azote %..... 7,51 7,73 (théorie)

elle était parfaitement blanche et donnait avec le réactif de Millon une superbe coloration rouge cerise spécifique de la tyrosine.

G. — I-TRYPTOPHANE

acide indol- α -aminopropionique



Cet acide a été découvert en 1890 par Neumeister, dans les produits de décomposition de la caséine. Son importance, au point de vue alimentaire, est capitale : un animal nourri, par exemple, exclusivement de protéiques ne renfermant pas de tryptophane (la gélatine) succombe très rapidement.

Hopkins et Cole l'ont préparé au cours d'une digestion pancréatique de caséine en le précipitant par le sulfate mercurique ; la caséine en renferme environ 1 à 2 %).

Il se présente sous l'aspect de paillettes brillantes,

blanches ou légèrement teintées, peu solubles dans l'eau froide, mais très solubles à l'ébullition. L'alcool froid en dissout de petites quantités.

Préparation du chlorhydrate. — Il suffit de dissoudre le tryptophane dans l'eau et de saturer la solution par un courant d'acide chlorhydrique gazeux. Nous l'avons obtenu plus simplement encore en ajoutant de l'acide chlorhydrique concentré en excès à une solution de tryptophane.

Le dérivé chlorhydrique formé, en raison de son insolubilité dans l'acide chlorhydrique concentré ne tarde pas à se précipiter. Le précipité est essoré, lavé à l'acide et mis à sécher à l'air libre; les eaux-mères concentrées et saturées par un courant d'acide chlorhydrique gazeux abandonnent les dernières traces de chlorhydrate.

Le composé obtenu n'était pas parfaitement blanc, mais légèrement brunâtre; il se présentait au microscope sous forme de cristaux allongés et contenait :

Chlore %.....	14,12	14,76 (théorie)
---------------	-------------	-----------------

Le chlorhydrate est très soluble dans l'eau, soluble dans l'alcool méthylique, plus difficilement dans l'alcool absolu froid.

Action de l'aniline. — Il est utile de n'opérer qu'en présence de solutions alcooliques concentrées de ce chlorhydrate; les solutions diluées dans de l'alcool de titre faible ne donnent lieu souvent qu'à des précipitations incomplètes qui peuvent même faire totalement défaut.

Dans ces conditions, une solution alcoolique d'aniline

ajoutée à une solution alcoolique de chlorhydrate de tryptophane, produit un abondant précipité légèrement brunâtre, fait de paillettes microcristallines incolores, à six côtés.

Ce précipité lavé à l'alcool absolu et débarrassé de toute trace de chlorhydrate d'aniline et d'aniline, est peu soluble dans l'eau froide, beaucoup plus à chaud; l'alcool absolu froid n'en dissout que des quantités insignifiantes et sa saveur est peu prononcée.

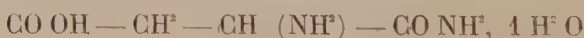
L'analyse de ce résidu donne :

Azote %..... 13,34..... 13,72 (théorie)

Il donne très nettement la réaction caractéristique du tryptophane, dite réaction d'Hopkins et Cole, obtenue en ajoutant deux gouttes de réactif glyoxylique à sa solution et versant le tout sur de l'acide sulfurique concentré.

A la surface de contact des deux liquides, il se développe un bel anneau bleu violet intense.

H. — 1-ASPARAGINE



Bien que l'asparagine ne soit pas comprise dans la liste des acides aminés fondamentaux, nous avons cependant voulu la rattacher à ce groupe avant d'aborder celui des mono-amino-diacides, à cause de ses étroits rapports avec son dérivé direct, l'acide aspartique, qui se forme par substitution d'un groupement acide CO OH au groupement amidé CO NH².

Industriellement, cette asparagine s'obtient à partir des sucs fermentés d'un grand nombre de plantes: les

jeunes poussees d'asperges, les racines de belladone, de guimauve, de réglisse, ainsi qu'un grand nombre de légumineuses et de cucurbitacées en fournissent également.

Il suffit, pour la préparer, d'extraire le suc de ces végétaux, de le soumettre d'abord à l'ébullition pour précipiter les substances albuminoïdes qu'il renferme, et de le laisser fermenter quelque temps. Par concentration, ensuite, l'asparagine cristallise.

Préparation du chlorhydrate. — Nos essais ont porté sur un chlorhydrate obtenu suivant les indications de Dessaignes.

On peut, en effet, le préparer de plusieurs façons :

En dissolvant d'abord l'asparagine hydratée dans la quantité théorique d'acide chlorhydrique concentré pour former le dérivé $C^4 H^8 N^2 O^8$, HCl, qui se dépose par évaporation de la solution à une douce température.

Ce procédé ne nous a pas donné les résultats attendus, car l'asparagine est très instable en présence des acides minéraux dilués, surtout à chaud, et se dédouble très rapidement en acide aspartique et sel d'ammonium.

Une autre méthode consiste à faire agir l'acide chlorhydrique gazeux sur l'asparagine :

Si l'asparagine employé est anhydre, le composé obtenu est un sous-chlorhydrate répondant à la formule $(C^4 H^8 N^2 O^8)^2 HCl$. Les dosages d'acide chlorhydrique, d'après Dessaignes, sont de 10,02 et 10,98 %, au lieu de 12,11, chiffre prévu par la théorie.

Dans les mêmes conditions, l'asparagine hydratée fournit le vrai chlorhydrate. Sous l'action de l'acide chlorhydrique gazeux, l'asparagine finement pulvérisée

s'humidifie, se prend en masse, avec élévation de température, à mesure que se produit l'absorption du gaz. Quand celle-ci est complète, on chasse l'excès de gaz par un violent courant d'air. Nous avons ainsi obtenu un produit sec qui répandait à l'air d'épaisses vapeurs d'acide chlorhydrique. Ce corps renferme, dit Dessaignes, 23,19 % de chlore. Nous l'avons fait dissoudre dans la plus petite quantité d'eau bouillante possible et la solution a été mise à cristalliser dans le vide. Par concentration, il se fait un sirop visqueux, à consistance de glycérine, au sein duquel une abondante cristallisation ne tarde pas à se développer.

Les cristaux qui prennent naissance sont incolores, prismatiques et tronqués à leurs deux extrémités : essorés et secs, ils sont excessivement solubles dans l'eau à laquelle ils communiquent une réaction franchement acide.

Vers 70°, ils entrent en fusion, donnant une masse visqueuse qui se dessèche complètement vers 160°-170°, boursoufle vers 210°, jaunit, noircit, charbonne et enfin se décompose à 320° environ.

L'analyse de ce dérivé nous a conduit à des résultats un peu différents de ceux de Dessaignes, et qui correspondaient à un chlorhydrate possédant une molécule d'eau de cristallisation, ce que ne signale pas l'auteur : l'azote qu'il contient, en effet, est :

14,77	15,00	15,03
le chlore % :		
18,70 '	18,89	19,03
(trouvé)	(trouvé)	calculé pour le sel
		à 1 H ² O

Les résultats calculés pour le chlorhydrate anhydre sont :

Azote %.....	16,61
Chlore %.....	21,06

D'autre part, ces cristaux finement pulvérisés et placés à 120° à l'étuve pendant deux heures accusent, après pesée, une perte de poids de 8 %. Une seconde dessiccation à 140° pendant six heures aboutit à une perte d'eau de 10,15 %; la perte théorique est de 9,6 %.

De nouveaux dosages effectués sur le sel ainsi desséché, confirment ce fait; nous trouvons ainsi:

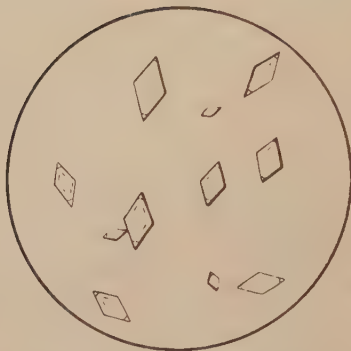
	(trouvé)	(trouvé)	(calculé)
Azote %	16,13	16,15	16,61 (théorie)
Chlore %	20,49	20,52	21,06 (théorie)

Action de l'aniline. — Nous avons opéré comme pour les acides aminés précédemment décrits. On prépare une solution concentrée de chlorhydrate qu'on additionne d'un peu d'alcool puis de solution alcoolique d'aniline. La réaction est presque instantanée et il se développe dans le liquide d'innombrables petits cristaux isolés ou groupés, de forme losangique, possédant à leurs deux extrémités pointues deux petites facettes.

Au bout de douze heures de repos, on essore et on lave le précipité à l'alcool absolu; le produit obtenu est parfaitement blanc, ne retenant ni chlore, ni aniline; 3 grs 73 de chlorhydrate ont fourni 2 grs 85 d'asparagine pure, soit un rendement de 95 %.

Le dosage de l'azote dans ce précipité donne pour résultat:

Azote % (trouvé).....	18,34	(calculé) 18,66
-----------------------	-------	-----------------



Les oxydes métalliques produisent également à froid la mise en liberté de l'asparagine, mais si l'on en ajoute un excès et si l'on élève la température, il se fait un mélange d'asparaginate et de chlorure du métal. C'est ainsi que le cuivre (hydrate bleu) donne, dans ces conditions, une solution d'un beau bleu qui, par refroidissement, abandonne de petits oursins bleus, ou de petits cristaux bleus, isolés, parfois groupés en rosettes, hexagonaux, peu solubles dans l'eau d'où on peut les séparer par évaporation lente; si l'on poursuit la concentration, le chlorure de cuivre cristallise.

La composition de ces cristaux est celle de l'asparaginate de cuivre.

La chaux ajoutée à froid jusqu'à neutralisation dans la solution acide de chlorhydrate provoque également la précipitation de l'asparagine, tantôt sous la forme indiquée ci-dessus, tantôt sous forme de petits prismes caractéristiques.

L'analyse de ce précipité donne:

Azote % 18,64	18,66 (théorie)
---------------------	-----------------

§ 2. = *Mono-amino = Diacides*

A. — ACIDE L-ASPARTIQUE



Cet acide dérive, comme nous l'avons dit, de son amide, l'asparagine. Il s'en produit dans la décomposition des protéines en même temps que l'acide glutamique ; la caséine en fournit : 1,2 % ; la sérine : 3,1 ; la globine du sang de cheval : 4,43 %, etc...

Les procédés de préparation de cet acide sont nombreux et utilisent tous l'asparagine.

Plisson l'a obtenu en faisant bouillir celle-ci avec de l'oxyde de plomb, chassant le plomb par l'hydrogène sulfuré et ce dernier par ébullition ; la liqueur concentrée laisse déposer l'acide aspartique.

D'autres auteurs substituent l'eau de baryte à l'oxyde de plomb et chauffent jusqu'à cessation de dégagement d'ammoniaque. On précipite la baryte par l'acide sulfurique, et le filtrat abandonne l'acide pur.

Le procédé le plus simple et que nous avons utilisé consiste à traiter l'asparagine par l'acide chlorhydrique dilué à l'ébullition pendant huit heures, au bout desquelles le liquide saturé par le marbre ou l'ammoniaque donne lieu à un abondant précipité d'acide aspartique qu'on essore, lave à l'eau distillée et qu'on sèche.

Il constitue un produit blanc composé de petites tables ou feuillets minces rectangulaires, d'aspect soyeux micacé, tronqués sur les bords généralement et appartenant au système orthorhombique.

A froid, cet acide est peu soluble dans l'eau (1 p. 364 à 44°) ; l'eau bouillante et l'alcool le dissolvent mieux ainsi que les acides minéraux.

Préparation du chlorhydrate. — En dissolvant cet acide dans un excès d'acide chlorhydrique pur, nous avons obtenu une solution incolore qui, concentrée plusieurs jours de suite dans le vide, forme un liquide visqueux, très acide, qui a donné naissance à une multitude de petits cristaux orthorhombiques de chlorhydrate.

Après essorage et dessiccation, ces cristaux analysés renfermaient :

Chlore %	21,08		20,94	calculé
Azote %	8,45		8,26	—

Ce chlorhydrate est soluble dans l'eau, mais immédiatement dissocié en ses constituants ; cette décomposition ne se produit plus quand on ajoute quelques gouttes d'acide chlorhydrique à l'eau. L'humidité atmosphérique même peut la produire aussi.

L'alcool absolu dissout ce chlorhydrate, mais l'alcool à 95° le dissocie également, avec mise en liberté d'acide aspartique ; l'addition d'eau accélère cette décomposition. Ces caractères le rapprochent du chlorhydrate de cystine avec lequel il présente une singulière analogie.

Action de l'aniline. — En solution chlorhydrique concentrée, ce composé, traité par l'alcool absolu contenant de l'aniline en dissolution, donne naissance, au bout de quelques instants, à un trouble léger, qui s'accroît de plus en plus, et aboutit à la formation d'un abondant précipité cristallin.

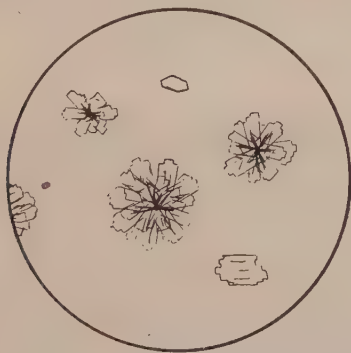
Au bout de douze heures, on essore le dépôt formé et

on le lave plusieurs fois à l'alcool absolu pour achever sa purification: Traité par le nitrate d'argent, il ne produit aucune précipitation; le chlore est donc éliminé totalement et se retrouve, en effet, dans l'alcool de lavages.

Le résidu, parfaitement blanc, examiné au microscope, se présente sous l'aspect de feuillets ou plaquettes rectangulaires incolores, plus ou moins déchiquetées et assemblées autour d'un centre commun, comme le montre la figure ci-dessous.

Le dosage de l'azote démontre la pureté de l'acide ainsi obtenu; le résultat, en effet, est:

Azote % 10,17 10,52 (théorie)



B. — ACIDE d-GLUTAMIQUE



Cet acide, qui est l'homologue supérieur de l'acide aspartique, se rencontre fréquemment dans les sucs de certaines plantes, telles que les vesces, dans les mélasses de betteraves.

Il se produit aussi, dans les hydrolyses, des matières albuminoïdes; parmi celles-ci, certaines n'en renferment que des traces, la gélatine et l'élastine en donnent moins de 1 %; d'autres, au contraire, ont une teneur en acide glutamique beaucoup plus élevée: la kératine en contient 3 %, la sérine 7 %, la caséine 11 %.

Les albumines végétales en fournissent beaucoup plus encore; la zéine du maïs, par exemple, 19 % et la gliadine du gluten, 30 %.

C'est à cette dernière substance que l'on s'adresse presque toujours pour la préparation de l'acide glutamique à cause de ses rendements fort élevés. Il suffit de traiter le gluten desséché et épuisé à l'alcool par de l'acide sulfurique.

On peut aussi remplacer l'acide sulfurique par l'acide chlorhydrique; la technique est la suivante:

Le gluten, privé de toute trace d'amidon par un long malaxage sous un courant d'eau, est mis à sécher à l'étude à 120°. Après dessiccation totale, on le broie finement, on l'introduit dans un grand ballon en verre d'émeraude muni d'un réfrigérant à reflux et d'un grand tube à dégagement plongeant dans un cristalliseur rempli d'eau: on l'additionne alors de cinq fois son poids d'acide chlorhydrique concentré et de quelques fragments de pierre ponce pour régulariser l'ébullition que l'on maintient pendant huit heures. L'excès de gaz acide chlorhydrique qui se dégage par le tube recourbé vient se dissoudre dans l'eau du cristalliseur.

On obtient de la sorte un liquide noirâtre contenant l'acide glutamique mélangé à des matières humiques. Pour obtenir des rendements supérieurs et un produit

plus pur, MM. L. Hugounenq et G. Florence conseillent d'ajouter un peu de grenaille d'étain et quelques gouttes de solution de chlorure de platine à la liqueur d'hydrolyse. Il se produit ainsi un dégagement d'hydrogène qui décolore lentement le liquide et quand on n'a plus qu'une teinte brune faible, on filtre et traite le filtrat par un courant d'hydrogène sulfuré pour éliminer l'étain, après l'avoir étendu de dix fois son volume d'eau. Le sulfure d'étain formé est séparé par filtration et le liquide concentré au bain-marie puis saturé par un courant d'acide chlorhydrique gazeux, en ayant soin de le refroidir énergiquement par un mélange de glace et de sel. Après saturation complète, on laisse en repos ce liquide dans la glace; le chlorhydrate d'acide glutamique formé se dépose au fond du récipient en raison de son insolubilité dans l'acide chlorhydrique concentré.

Les cristaux obtenus sont essorés, lavés à l'acide chlorhydrique pur; pour les avoir parfaitement incolores, il suffit de les redissoudre dans le minimum d'eau et de saturer de nouveau la solution par un courant d'acide chlorhydrique en refroidissant. On essore les cristaux et on les sèche enfin dans le vide en présence de chaux et d'acide sulfurique; à l'analyse on trouve :

Chlore % 19,24 19,34 (théorique)

Action de l'aniline. — La réaction donnée par l'aniline se produisant à froid, il n'est donc pas nécessaire d'opérer à la température du bain-marie, comme nous l'avions fait pour le glycocolle.

Il suffit simplement de dissoudre ce chlorhydrate dans la plus faible quantité d'eau possible et de l'additionner

de l'alcool-aniline pour voir immédiatement se former un volumineux précipité laiteux. Au bout de douze heures de contact, on décante l'alcool surnageant, on filtre à la trompe le dépôt obtenu et on le lave à plusieurs reprises à l'alcool. Quand ce dernier ne renferme plus de chlore après filtration, on sèche le résidu.

Une parcelle du précipité placée sous l'objectif du microscope montre une cristallisation en oursins faits de fines aiguilles assemblées, ou de minces feuillets cristallins incolores et d'aspect soyeux, peu solubles dans l'eau froide, mais beaucoup plus à chaud.

Le précipité redissous dans l'eau bouillante donne, après refroidissement de la solution, de belles écailles nacrées d'acide glutamique pur.



Le dosage d'azote effectué dans ce corps montre que nous sommes en présence d'un acide glutamique très pur, 0 g. 1826 ont fourni à l'analyse :

Azote % 9,35 9,52 (théorie)

Les chlorhydrates des mono-amino-diacides sont donc

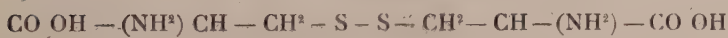
aussi très facilement décomposés par l'aniline comme le sont ceux des mono-amino-monoacides.

§ 3. = *Diamino = Monoacides*

Ce groupement comprend quatre composés très importants: arginine, lysine, histidine, cystine que l'on rencontre abondamment dans les produits de décomposition d'un grand nombre de protamines, et particulièrement dans la salmine, elupéine, sturine et scombrine extraites du sperme de certains poissons.

Ces corps, comme les acides aminés précédemment étudiés, fournissent, avec les acides minéraux, et surtout l'acide chlorhydrique, des dérivés mono et bichlorhydriques. L'arginine donne un monochlorhydrate; la cystine un bichlorhydrate, la lysine et l'histidine à la fois des mono et des bichlorhydrates. L'acide picrique donne également avec eux des combinaisons stables et bien cristallisées.

A. — 1-CYSTINE



Cet acide aminé prend naissance dans la décomposition de certaines albuminoïdes telles que la corne, les cheveux, les ongles, et renferme du soufre dans sa molécule.

La presque totalité du soufre contenu dans les matières protéiques y existé à l'état de cystine.

On la retrouve dans l'urine et dans la vessie où elle forme parfois des calculs.

C'est une poudre blanche, quand elle est pure, insoluble à froid dans l'eau et l'alcool, soluble dans l'ammoniacque, d'où elle cristallise par évaporation en écailles incolores, hexagonales et absolument typiques. Elle est soluble également dans les acides minéraux.

Préparation du bichlorhydrate. — La cystine se dissout dans l'acide chlorhydrique concentré en excès et à chaud pour donner une solution parfaitement limpide qu'on abandonne à l'évaporation spontanée. Au bout de quelques jours, il se produit une abondante cristallisation de longs prismes incolores qu'on essore et dessèche dans un courant d'air.

Ce chlorhydrate répond à la formule $C^6 H^{12} N^2 O^4 S^2$, $2 HCl$; c'est donc un bichlorhydrate. Il est soluble dans l'eau, mais immédiatement décomposé en ses éléments comme le chlorhydrate d'acide aspartique. Il suffit, ici encore, de quelques gouttes d'acide chlorhydrique pour empêcher la dissociation. L'alcool fort produit les mêmes effets que l'eau.

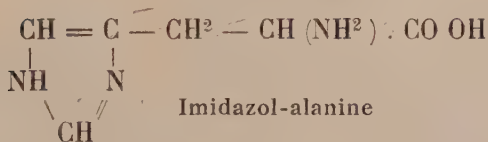
Action de l'aniline. — A une solution alcoolique de chlorhydrate de cystine obtenue en dissolvant la cystine dans de l'alcool faible (60° environ) additionné d'acide chlorhydrique pur, si l'on ajoute une quantité suffisante de solution alcoolique d'aniline, on voit bientôt se former un précipité abondant qui, essoré, lavé plusieurs fois à l'alcool absolu jusqu'à élimination to-

tales des impuretés, se présente sous l'aspect d'un produit très blanc. Examiné au microscope, on le voit formé de cristaux hexagonaux caractéristiques; ils sont généralement isolés ou quelquefois assemblés entre eux.

La rareté de la cystine et la quantité dont nous disposions ne nous ayant pas permis le dosage de l'azote dans le résidu, nous nous sommes bornés simplement à constater dans ce dernier l'absence complète de chlore. Aucun doute n'est donc possible; l'aniline a bien libéré la cystine de sa combinaison.

Le chlorhydrate est attaqué de même par l'aniline, au sein des dissolvants organiques, chloroforme, éther, benzine, où il est insoluble. Les cristaux perdent leur transparence, s'opacifient et on ne retrouve plus dans le résidu de traces de chlore, décelables par le nitrate d'argent.

B. — 1-HISTIDINE



Ce composé découvert par Kossel, en 1896, dans la surine, protamine du sperme d'esturgeon, se rencontre également dans la décomposition de beaucoup de protéines et de plantules de légumineuses. La caséine en renferme 2,6 %; le gluten 2 % environ. On la retire surtout de l'hémoglobine, dont la teneur en histidine s'élève à près de 11 %.

La décomposition du sulfate de sturine se fait par l'acide sulfurique à l'ébullition (Kossel) ; après de nombreuses opérations, on obtient le monochlorhydrate d'histidine que l'on décompose par du sulfate d'argent. L'argent est éliminé par l'hydrogène sulfuré et le sulfate d'histidine formé décomposé quantitativement par de la baryte. On obtient de la sorte l'histidine pure.

Elle est soluble dans l'eau et lui communique une réaction fortement alcaline à cause de la présence de ses deux fonctions NH^2 ; elle se combine facilement aux acides minéraux, même à l'acide carbonique de l'air.

L'acide chlorhydrique en quantité calculée forme d'abord avec elle un monochlorhydrate qui se dissout dans un excès d'acide et se transforme en un bichlorhydrate très soluble dans l'eau, presque insoluble dans l'alcool.

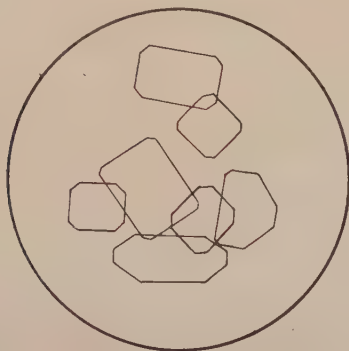
Action de l'aniline sur le bichlorhydrate. — Ce bichlorhydrate a été dissous dans de l'eau distillée à chaud et additionné d'un grand excès de solution alcoolique d'aniline tiédie à 50° environ. Au bout de quelques minutes, la précipitation s'amorce : on peut bientôt distinguer au sein du liquide de petites paillettes brillantes dont le nombre augmente sans cesse.

Après une nuit de repos, le volumineux précipité qui s'est rassemblé au fond du récipient, est recueilli, essoré à la trompe à vide et lavé à l'alcool absolu jusqu'à ce que ce dernier passe incolore et ne renferme plus de chlore.

On obtient de la sorte un résidu très blanc, onctueux, gras au toucher, formé de minuscules feuillets cristallins affectant au microscope une forme octogonale

comme le montre la figure ci-dessous. Ces feuillets sont absolument incolores, bien cristallisés et à contours très nets.

Ce n'est pourtant pas de l'histidine pure qui a pris



naissance dans cette réaction, comme le fait s'était déjà renouvelé pour tous les autres acides aminés précédemment étudiés. En effet, le nitrate d'argent en milieu azotique décèle dans ces cristaux des quantités notables de chlore :

A l'analyse, nous trouvons pour ce composé, après recristallisation dans l'eau :

Chlore %..... 14,35 et 14,42.

Il semble que ce corps soit le monochlorhydrate, bien que les chiffres ci-dessus présentent un écart notable avec les chiffres théoriques calculés pour le monochlorhydrate vrai, cristallisant avec une molécule d'eau. Pour ce dernier, on aurait :

Chlore : %, 16,94, tandis que le bichlorhydrate en renfermerait 31,14 %.

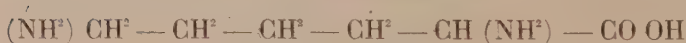
Dans les mêmes conditions, la pyridine fournit un précipité analogue.

Malheureusement, il ne nous a pas été possible, en raison de la quantité limitée de bichlorhydrate disponible, de répéter cette expérience pour contrôler la précision de ces dosages de chlore sur un monochlorhydrate obtenu dans une nouvelle précipitation.

Cependant, tout porte à croire que le corps qui prend ici naissance, est bien le monochlorhydrate; l'abaissement considérable du taux de chlore, qui tombe de 31.14 à 14.35, la perte de poids que subit ce composé après un séjour à l'étuve à 120° et son insolubilité dans l'alcool, sont autant de raisons en faveur de cette opinion.

L'action de l'aniline ne s'exercerait ici qu'imparfaitement et ne serait pas suffisante pour libérer la base même; il serait donc nécessaire d'avoir recours à une base plus énergique encore que l'aniline, ou d'employer, comme il a été déjà signalé plus haut, la méthode du sulfate d'argent (Kossel).

C. — d-LYSINE



acide diamino-caproïque

Cet acide découvert en 1890 par Dreschschel, dans l'hydrolyse de la caséine par l'acide chlorhydrique à chaud, se rencontre presque toujours associé à l'histidine et à l'arginine dans beaucoup de substances protéiques, dans les protamines, l'hémoglobine et un certain nombre de végétaux.

L'hydrolyse de la caséine (Kossel) fournit un mélange de diamines dont on isole la lysine par transformation de l'histidine et de l'arginine en dérivés argentiques insolubles. Le filtrat qui contient la lysine est repris par l'acide picrique, et de ce picrate obtenu on régénère l'amino-acide.

Cette lysine, comme l'histidine et l'arginine, est soluble dans l'eau et possède une réaction franchement alcaline, malgré la présence dans sa molécule d'une fonction acide.

Elle se combine à l'acide chlorhydrique pur, pour former deux dérivés : le monochlorhydrate, obtenu par addition d'HCl jusqu'à neutralisation, et qu'on isole en le précipitant par l'alcool ; et le bichlorhydrate préparé par décomposition du picrate de lysine, au moyen d'acide chlorhydrique concentré en présence d'éther.

Ces deux chlorhydrates sont très solubles dans l'eau, solubles dans l'alcool méthylique, mais insolubles dans l'alcool absolu.

Action de l'aniline. — Ce bichlorhydrate a été dissous dans l'alcool méthylique à chaud et traité par une solution alcoolique d'aniline tiède ; il donne lieu, au bout de quelques instants, à une précipitation abondante en forme d'oursins microscopiques composés de petites paillettes cristallines, rectangulaires, incolores, qui renferment, après des lavages réitérés à l'alcool absolu, beaucoup de chlore. (La pyridine agit de même et peut être plus rapidement encore ; elle occasionne immédiatement la formation d'un volumineux précipité blanc analogue à celui donné par l'aniline.)

Le dosage du chlore montre, comme pour le chlorhydrate d'histidine, un abaissement considérable de la teneur en cet élément.

Nous avons, en effet, trouvé :

Chlore % 16,17..... et 16,48

Le monochlorhydrate vrai doit en renfermer 19,45 %. Malgré cette différence considérable dans les résultats, nous croyons également pouvoir affirmer encore qu'il s'agit bien ici du monochlorhydrate, dont il présente toutes les propriétés, solubilité dans l'alcool méthylique chaud, insolubilité dans l'alcool absolu, etc..

Là comme pour l'histidine, l'aniline n'a donc pour effet que la décomposition incomplète du bichlorhydrate et ne suffit pas à éliminer totalement l'acide chlorhydrique combiné.

Nous n'avons pu isoler la lysine à partir de son bichlorhydrate, ni par l'action de l'aniline à chaud, ni par l'action de la pyridine. En présence de ces deux bases, la dissociation ne se poursuit pas et aboutit à la formation seule du monochlorhydrate qui reste ensuite vis-à-vis d'elles parfaitement stable.

D. — d-ARGININE



Guanidine de l'acide α - β -diaminovalérianique

Cette base existe dans les semences de lupin (cotylédons germés) dans la rave, le topinambour et les jeunes plantules de légumineuses. La caséine, l'hémoglobine,

la gélatine, en renferment de 4 à 8 %; l'amandine, la légumine, de 10 à 12 %. Les protamines du sperme de certains poissons sont particulièrement riches en arginine : la sturine en a 58 %; la scombrine, la clupéine, la salmine ont une teneur s'élevant de 80 à 89 %.

La décomposition de la gélatine par l'acide chlorhydrique selon le procédé de Hédin donne un rendement de 20 grammes d'arginine pour 800 grammes de gélatine utilisée. Elle se présente sous l'aspect de prismes incolores, assemblés parfois en rosaces, solubles dans l'eau, insolubles dans l'alcool, de saveur amère et absorbant facilement l'acide carbonique de l'air.

L'acide chlorhydrique la dissout avec formation d'un monochlorhydrate très soluble dans l'eau, mais non dans l'alcool.

Action de l'aniline. — Ce monochlorhydrate n'est attaqué par l'aniline, ni à chaud, ni à froid. Même après six heures de contact à l'ébullition, on retrouve toujours beaucoup de chlore dans le résidu, et nulle trace dans l'alcool de lavages.

Si l'on opère par précipitation, on ne voit se former aucun précipité : l'attaque n'a donc pas lieu comme pour les autres acides aminés.

TROISIEME PARTIE

Action des oxydes de chrome et de cobalt sur les acides aminés

§ 4. = *Sels de chrome*

Les acides aminés ont la propriété de se combiner, grâce à leur groupement fonctionnel CO OH , aux divers métaux, pour former des sels, à l'exemple des acides minéraux.

Ces dérivés métalliques ont été déjà étudiés pour la plupart; on connaît les sels de plomb, mercure, argent, calcium, baryum, sodium, potassium, etc.

Parmi les métaux qui se combinent avec une grande facilité à ces acides, le cuivre tient la première place; il donne, en effet, avec eux, une réaction extrêmement brillante, et les sels obtenus sont bien cristallisés et d'une belle couleur bleue. On peut les préparer en mélangeant une solution de sulfate de cuivre à une solution

d'acides aminés et précipitant ensuite quantitativement l'acide sulfurique par la baryte. Mais, le plus généralement, ils prennent naissance par simple dissolution du carbonate ou de l'oxyde dans une solution d'acide aminé chaude.

Les sels de chrome n'ayant pas encore été étudiés, à notre connaissance, sur l'avis de M. le professeur Hugounenq, nous nous sommes efforcés de les préparer et de déterminer leur composition chimique.

Nous avons fait réagir à l'ébullition sur les acides aminés que nous possédions, de l'oxyde de chrome fraîchement précipité, obtenu comme suit :

On dissout, dans 10 litres d'eau distillée environ, cinquante grammes d'alun de chrome pur. et on ajoute alors, par petites quantités et en agitant, une solution diluée d'ammoniaque jusqu'à légère alcalinité vérifiée au tournesol.

Il se produit un abondant précipité floconneux bleu-verdâtre d'oxyde de chrome qu'on laisse se rassembler au fond du récipient ; on siphonne le liquide surnageant et on le remplace par de l'eau distillée ; ces lavages doivent être ainsi répétés jusqu'à disparition complète de l'ammoniaque en excès et du sulfate d'ammoniaque formé. L'oxyde de chrome est alors prêt pour l'usage.

On ajoute ensuite, peu à peu, et jusqu'à léger excès, cet oxyde, à la solution bouillante de l'acide aminé, et l'on maintient la température pendant une heure environ, en remplaçant l'eau qui s'évapore. L'oxyde se dissout progressivement et colore en rose le liquide ; on filtre, et la liqueur est enfin concentrée au bain-marie

jusqu'à cristallisation. Les corps obtenus sont essorés, séchés et soumis à l'analyse.

Le chrome est dosé à l'état de sesquioxyde par simple calcination, jusqu'à poids constant, et l'azote, comme précédemment, par la méthode de Kjeldahl et distillation de l'ammoniaque dans l'acide sulfurique titré.

l-Asparagine. — La réaction obtenue en dissolvant l'oxyde de chrome dans une solution d'asparagine à l'ébullition, est excessivement brillante. On obtient ainsi très rapidement un liquide rouge rubis foncé qui, filtré à chaud, abandonne par concentration et refroidissement, un dépôt pulvérulent rosé formé de petites aiguilles cristallines isolées ou, plus souvent groupées en oursins et visibles seulement au microscope. On essore ce dépôt et on le met sécher à l'air libre; les eaux-mères concentrées abandonnent à leur tour de nouvelles quantités de produit.

Desséché pendant quatre heures à l'étuve réglée à 120°, ce composé ne perd pas d'eau de cristallisation. A l'analyse, on trouve :

Chrome %	 11,77	 11,68	(théorie)
----------	-------------	-------------	-----------

Azote %	 19,04	 18,87	(théorie)
---------	-------------	-------------	-----------

Les chiffres théoriques ci-dessus se rapportent à l'asparaginate de chrome de formule.



Ce sel est soluble dans l'eau froide; beaucoup plus à chaud; l'alcool le précipite de sa solution aqueuse et il est également insoluble dans les autres dissolvants organiques usuels: éther, chloroforme, benzine, etc.

Acide l-Aspartique. — Cet acide dissout aussi l'oxyde de chrome à l'ébullition. On filtre à chaud pour éliminer l'excès d'oxyde non combiné et, par concentration, on obtient une poudre rosée formée de petits prismes très ténus, pointus à leurs deux extrémités. Ces cristaux sont presque insolubles dans l'eau froide, beaucoup plus facilement à chaud, et insolubles dans l'alcool. Ils répondent à la formule d'un sel ayant la composition suivante :



dont le poids moléculaire est 448,5.

Les quantités de chrome et d'azote qu'il renferme sont respectivement :

Chrome %	11,48
Azote %	8,76

Les quantités calculées pour le composé ci-dessus sont, en effet :

Chrome %	11,70
Azote %	8,92

Acide d-Glutamique. — L'oxyde de chrome donne, avec cet acide, une solution rose violacée; après filtration et concentration au bain-marie, on obtient un résidu sirupeux, assez difficilement cristallisable, qui se détache des parois de la capsule sous forme d'écailles analogues à celles du citrate de fer ammoniacal du commerce. Ces écailles sont rouges, peu solubles dans l'eau froide, solubles à chaud, insolubles dans l'alcool et, comme les deux sels précédents, ne renferment pas d'eau de cristallisation.

Leur formule est :



et le poids moléculaire de ce composé s'élève à 490,5.

Nous avons trouvé, à l'analyse, les résultats suivants :

Chrome % 10,70

Azote % 8,35

La teneur en chrome et en azote (théorique) serait de :

Chrome % 10,70

Azote % 8,56

Il se forme également des dérivés du chrome avec les acides suivants :

Glycocolle, lequel donne deux sels. L'un est violet et cristallise par évaporation lente de la solution en petites tables carrées ou rectangulaires, visibles au microscope, presque insolubles dans l'eau et insolubles dans l'alcool. Sèches, elles constituent une poudre violacée.

L'autre est, au contraire, d'un beau rouge; les cristaux sont de gros prismes volumineux et contiennent 17,45 % de chrome.

Alanine.

Valine.

La leucine, la tyrosine et le tryptophane semblent ne pas attaquer l'oxyde de chrome à l'ébullition. D'autres acides aminés (histidine) donnent aussi des dérivés colorés, mais plus difficilement.

B. — SELS DE COBALT

Pour les préparer, nous avons utilisé l'oxyde de cobalt obtenu en traitant, par une solution d'ammoniaque diluée, une solution également très diluée de nitrate de

cobalt, et en opérant de la manière indiquée à propos des sels de chrome.

Après lavages abondants, jusqu'à élimination totale du nitrate d'ammoniaque formé et d'ammoniaque libre, nous avons fait dissoudre l'oxyde ainsi obtenu dans la solution bouillante de l'acide aminé.

Il se produit une belle liqueur rouge que l'on filtre à chaud pour éliminer l'oxyde de cobalt en excès, et on concentre lentement le filtrat au bain-marie jusqu'à cristallisation.

Dans les cristaux desséchés, nous avons dosé le cobalt à l'état de cobalt métallique, après une calcination dans un courant d'oxygène et réduction de l'oxyde par un courant d'hydrogène passant sur lui au rouge sombre.

L'azote a été titré par la méthode de Kjeldahl.

Glycocolle. — Il donne deux dérivés, étudiés déjà et sur lesquels nous ne pouvons revenir.

l-Asparagine. — Comme avec l'oxyde de chrome, l'asparagine donne, avec l'oxyde de cobalt, une réaction extrêmement brillante. Cet oxyde se dissout très facilement et la solution obtenue est d'un beau rouge-grenat.

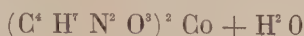
L'addition d'alcool en quantité suffisante y produit un précipité rouge amorphe. Par concentration de la solution aqueuse au bain-marie, on obtient un dépôt rouge noirâtre pulvérulent sans cristallisation bien apparente.

Après dessiccation à l'air libre, ce dérivé analysé fournit les résultats suivants :

Cobalt %	15,07
Azote %	13,92

Après un séjour à 120° pendant six heures, à l'étuve, la perte de poids pour 0 grs 1437 de substance s'élève à 0,0274 et 0,0282, soit 19,10 % et 19,62 %.

D'après ces résultats, ce sel correspondrait à l'asparaginate de cobalt de formule ci-dessous et cristallisant avec quatre molécules d'eau :



Pour celui-ci, les chiffres théoriques sont, en effet :

Cobalt %	15,01
Azote %	14,24
Eau %	18,36

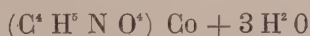
Ce dérivé est très soluble dans l'eau froide, mais insoluble dans l'alcool absolu. Au spectroscope, sa solution ne présente pas de spectre d'absorption.

Acide l-Aspartique. — Cet acide dissout aisément l'oxyde de cobalt, donne une solution rouge foncé qui, par concentration au bain-marie, laisse déposer de petits prismes microscopiques analogues, mais plus volumineux cependant, à ceux de l'aspartate de chrome. Ces cristaux, une fois bien desséchés, ont donné à l'analyse :

Cobalt %	24,11
Azote %	5,72

...Par dessiccation à 120°, pendant six heures, la perte d'eau accusée s'élève à 21,72 %.

Ce sel serait ainsi l'aspartate de cobalt de formule.



La théorie prévoit, en effet, pour ce composé :

Cobalt %	24,18
Azote %	5,73
Eau %	22,13

Ce dérivé est assez soluble dans l'eau, surtout à chaud. La teneur d'une solution saturée à 17° s'élève à 29 grs 3 pour 1.000 grs d'eau distillée. Il est, par contre, insoluble dans l'alcool absolu et les divers solvants organiques usuels.

Il ne donne également aucun spectre d'absorption.

Acide d-Glutamique. — Le sel obtenu par dissolution de l'oxyde de cobalt dans l'acide glutamique en solution aqueuse bouillante se dépose par concentration au bain-marie. Ce sont de petits prismes, visibles à l'œil nu, rouges, presque noirs. Essorés et séchés, ils ont la composition suivante :

Cobalt %	23, 28 et 23,48
Azote %	5,78
Eau	18,93

(perdue après dessiccation pendant six heures à 120°).

Ce corps serait un glutamate de cobalt de formule :



Les résultats calculés pour ce sel sont respectivement :

Cobalt %	23,69
Azote %	5,62
Eau %	18,07

Comme les dérivés précédents, celui-ci est soluble dans l'eau, beaucoup plus à chaud ; une solution saturée en voie de cristallisation contient, à la température de 17°, 61 grs 12 de glutamate de cobalt. L'alcool absolu le précipite à l'état amorphe de sa solution aqueuse et il se présente, une fois sec, sous forme d'une poudre rouge. L'éther, la benzine, le chloroforme ne le dissolvent pas — et il ne présente pas de spectre d'absorption.

Des dérivés analogues se forment avec les acides aminés suivants; malheureusement, en raison de la rareté de ces derniers, il ne nous a pas été possible de préparer des quantités suffisantes de leurs dérivés pour en effectuer l'analyse:

d-Alanine donne, avec l'oxyde de cobalt, une solution rouge qui laisse déposer, par concentration et refroidissement, de longues aiguilles rouges, solubles dans l'eau, presque insolubles dans l'alcool.

La **d-Valine**, la **l-Leucine**, la **l-Tyrosine**, le **l-Tryptophane** attaquent faiblement l'oxyde de cobalt.

Il semble donc que, plus le poids moléculaire de ces acides augmente, plus leur action sur les oxydes de chrome et de cobalt diminue d'intensité, au point de devenir presque nulle pour le tryptophane, alors que le glycocolle et l'alanine réagissent énergiquement.

Les diacides les dissolvent bien; les diamines, au contraire, pas du tout.

CONCLUSIONS

I. — Les acides aminés donnent, avec l'acide chlorhydrique concentré, gazeux ou liquide, des combinaisons bien définies et déjà connues. On les régénère très facilement en décomposant ces chlorhydrates par une solution alcoolique d'aniline qui libère de suite les amino-acides avec formation de chlorhydrate d'aniline, soluble dans l'alcool, et dont l'élimination se pratique aisément.

Ce procédé présente sur les autres méthodes usitées jusqu'à ce jour l'avantage de son extrême simplicité.

II. — Tous les dérivés chlorhydriques du glycolle, alanine, valine, leucine, tyrosine, tryptophane, asparagine, acides aspartique et glutamique et cystine sont décomposés par l'aniline.

Les bichlorhydrates de lysine et d'histidine ne le sont qu'imparfaitement, et l'action de l'aniline n'aboutit qu'à leur transformation en monochlorhydrates.

Seule, l'arginine ne fournit pas de résultats.

III. — Il est nécessaire, pour effectuer cette décomposition, d'opérer en solution alcoolique d'un titre très élevé (alcool absolu de préférence), où les amino-acides

sont presque insolubles, et avec des solutions concentrées de ces chlorhydrates.

Ce procédé, très pratique pour la régénération des acides aminés à partir de leurs chlorhydrates, ne permet pas toutefois de les séparer les uns des autres dans une liqueur d'hydrolyse ; mais il peut s'appliquer à leur purification.

IV. — Ces acides aminés fournissent, comme avec l'oxyde de cuivre, des sels bien définis avec les oxydes de chrome et de cobalt ; ils sont solubles dans l'eau, insolubles dans l'alcool et les dissolvants organiques.

L'oxyde de chrome donne des dérivés avec : glycocolle, alanine, valine, acides glutamique et aspartique, asparagine.

Celui de cobalt en fournit également avec eux et avec la leucine, la tyrosine, le tryptophane.

LE PRÉSIDENT DE LA THÈSE :

L. HUGOUNENQ.

Vu :

LE DOYEN,

JEAN LEPINE.

Vu et permis d'imprimer :

Lyon, le 8 juin 1921.

LE RECTEUR PRÉSIDENT DU CONSEIL DE L'UNIVERSITÉ,

P. JOUBIN.

BIBLIOGRAPHIE

- L. HUGOUNENQ. — *Précis de Chimie Physiologique et Pathologique*, 1912.
- L. HUGOUNENQ et G. FLORENCE. — Note sur l'acide d-glutamique (*Bulletin de la Société Chimique de France*, août 1920).
- A. MOREL. — *Précis de Technique chimique*.
- E. BARRAL. — *Analyse Chimique Biologique générale*.
- ABDERHALDEN. — *Biochemisches Handlexikon*, 1911.
- CRAMER. — *Jürnal für praktische chemie*. (T. 96, 1865.)
- DESSAIGNES. — *Annalen d. Chemie u. Pharmazie*. (T. 82, 237.)
- WÜRTZ. — *Dictionnaire de Chimie* (1^{er} et 2^e suppléments).
- BÉHAL. — *Chimie organique*, 1896.
- BEILSTEIN. — *Handbuch der Organischen Chemie*.
- A. GAUTIER. — *Cours de Chimie organique*.
- R.-H. PLIMMER. — *Practical organic and Biochemistry*.
-

LYON
IMPRIMERIE EXPRESS
- RUE DE LA CHARITÉ -
46

